

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	I
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iii
PRAKATA	iv
PERSEMBAHAN	v
DAFTAR PUBLIKASI DAN SEMINAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang Penelitian	1
I.2 Tujuan Penelitian	4
I.3 Manfaat Penelitian	5
I.4 Kebaruan Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN PERUMUSAN HIPOTESIS	7
II.1 Tinjauan Pustaka	7
II.1.1 Bakteri asam laktat (BAL) dan kelengkeng (<i>Dimocarpus longan</i>)	7
II.1.2 Glukosa 6-fosfat dehidrogenase dan protease pada BAL	9
II.1.3 Amplifikasi gen dengan teknik PCR	12
II.2 Perumusan Hipotesis dan Rancangan Penelitian	14
II.2.1 Perumusan hipotesis 1	14
II.2.2 Perumusan hipotesis 2	14
II.2.3 Perumusan hipotesis 3	15
II.2.4 Perumusan hipotesis 4	15
II.2.5 Rancangan penelitian	16
BAB III METODE PENELITIAN	22
III.1 Alat dan Bahan	22
III.1.1 Alat	22
III.1.2 Bahan	22
III.2 Prosedur Penelitian	23
III.2.1 Persiapan dan pembuatan media	23
III.2.2 Pembuatan pereaksi untuk isolasi DNA dan PCR	24
III.3 Isolasi BAL dari Buah Kelengkeng (<i>Dimocarpus longan</i>)	25
III.3.1 Pertumbuhan BAL buah Kelengkeng	25
III.3.2 Identifikasi morfologi BAL	26
III.3.3 Uji aktivitas antimikroba	26
III.4 Uji Resistensi Terhadap Asam	27

III.5 Identifikasi Molekuler BAL Dengan Urutan Gen 16S rRNA	27
III.5.1 Pemurnian bakteri isolat	27
III.5.2 Isolat DNA bakteri	27
III.5.3 Analisis DNA dengan Elektroforesis gel agarosa	28
III.5.4 Amplifikasi gen 16S rRNA dengan PCR	29
III.5.5 Sekuensing hasil PCR dan identifikasi BAL	30
III.6 Karakterisasi Gen <i>Glukosa 6-Fosfat Dehidrogenase</i>	30
III.6.1 Desain primer gen <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i>	30
III.6.2 Amplifikasi fragmen gen <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i> dengan PCR	30
III.6.3 Sekuensing hasil amplifikasi	31
III.6.4 Identifikasi hasil sekuensing	31
III.6.5 <i>In silico modeling</i> gen <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i>	32
III.7 Uji Aktivitas Enzim Protease BAL	33
III.7.1 Skrining enzim protease	33
III.7.2 Uji aktivitas protease dengan spektrofotometer UV-Vis	33
III.8 Karakterisasi Enzim Protease	35
III.8.1 Desain primer enzim protease	35
III.8.2 Amplifikasi fragmen gen protease dengan PCR	35
III.8.3 Sekuensing hasil amplifikasi	36
III.8.4 Identifikasi hasil sekuensing	36
III.8.5 <i>In silico modeling</i> gen protease	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	37
IV.1 Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Kelengkeng	37
IV.1.1 Identifikasi morfologi BAL buah Kelengkeng	40
IV.1.2 Uji aktivitas antimikroba	43
IV.1.3 Uji resistensi terhadap asam	46
IV.1.4 Identifikasi molekuler BAL	48
IV.2 Karakterisasi Gen <i>Glukosa 6-Fosfat Dehidrogenase</i> dari Buah Kelengkeng	55
IV.3 Karakterisasi Gen Protease BAL	60
IV.3.1 Uji aktivitas enzim protease BAL isolat K7 dan K8	60
IV.3.2 Primer gen protease	63
IV.4 <i>In Silico Modeling</i>	70
IV.4.1 <i>In silico modeling</i> gen <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i>	70
IV.4.2 <i>In silico modeling</i> gen protease	77
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	84
V.1 Kesimpulan	84
V.2 Saran	84
DAFTAR PUSTAKA	85
LAMPIRAN	89
PUBLIKASI ILMIAH	123

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	Tanaman buah kelengkeng	8
Gambar II.2	Bagan alir penelitian	21
Gambar IV.1	Proses fermentasi anaerobik; a) sebelum fermentasi berlangsung; b) setelah fermentasi berlangsung	37
Gambar IV.2	Koloni bakteri yang tumbuh pada MRS agar; a) K1; b) K2; c) K3; d) K4; e) K5; f) K6; g) K7; h) K8; i) K9; j) K10	40
Gambar IV.3	Hasil pewarnaan Gram ; a) isolat K7; b) isolat K8	42
Gambar IV.4	Zona penghambatan isolat K7 dan K8 terhadap pertumbuhan <i>E.coli</i>	45
Gambar IV.5	Isolat bakteri yang ditumbuhkan pada pH 2,0; a) kontrol; b) isolat K7; c) isolat K8	48
Gambar IV.6	Produk PCR pada agarose gel Elektroforesis; M; 100 bp DNA ladder size marker, 1 = isolat K7 dan 2= isolat K8	49
Gambar IV.7	Urutan gen 16S rRNA dari isolat K7	51
Gambar IV.8	Urutan gen 16S rRNA dari isolat K8	51
Gambar IV.9	<i>Phylogenetic tree</i> isolat K7	54
Gambar IV.10	<i>Phylogenetic tree</i> isolat K8	55
Gambar IV.11	Produk amplifikasi gen glukosa 6-fosfat dehidrogenase; M= DNA ladder (marker), 1 = isolat K7	57
Gambar IV.12	Urutan nukleotida fragmen gen <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i> hasil PCR	58
Gambar IV.13	Produk amplifikasi desain primer gen protease DP1; M= DNA ladder (marker), 1 = isolat K7	65
Gambar IV.14	Hasil sekuensing gen protease DP1	65
Gambar IV.15	Produk amplifikasi desain primer gen protease DP2; M= DNA ladder (marker), 1 = isolat K7	67
Gambar IV.16	Hasil sekuensing gen protease DP2	68
Gambar IV.17	Urutan gen <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i> hasil pensejajaran dengan menggunakan clustalw2	71
Gambar IV.18	Hasil MSA dengan <i>Conseq server</i> gen <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i>	72
Gambar.IV.19	Homologi sampel dengan database protein	73
Gambar IV.20	<i>Phylogenetic tree glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i> isolat K7	74
Gambar IV.21	<i>Model template alignment</i> isolat dan template (1h9a.1.A) oleh SWISS-MODEL.	75
Gambar IV.22	Prediksi model 3D dari <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i>	76
Gambar IV.23	Urutan gen protease hasil pensejajaran	77
Gambar IV.24	Hasil MSA dengan <i>Conseq server</i> enzim protease	80
Gambar IV.25	<i>Phylogenetic tree</i> dari homologi protein isolat K7	81
Gambar IV.26	Pensejajaran struktur sekunder antara model protease	82

DAFTAR TABEL

Tabel IV.1	Penghitungan jumlah koloni isolat bakteri	39
Tabel IV.2	Hasil pengamatan morfologi bakteri	41
Tabel IV.3	Hasil pengamatan uji aktivitas antimikroba	44
Tabel IV.4	Hasil uji resistensi terhadap asam dari isolat K7 dan K8	46
Tabel IV.5	Hasil pengukuran konsentrasi DNA	48
Tabel IV.6	Hasil BLAST isolat K7	52
Tabel IV.7	Hasil BLAST isolat K8	53
Tabel IV.8	Hasil desain primer gen <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i>	56
Tabel IV.9	Hasil BLAST gen pengkode <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i>	59
Tabel IV.10	Hasil <i>screening</i> aktivitas enzim protease	61
Tabel IV.11	Hasil desain primer gen protease	64
Tabel IV.12	Hasil analisis BLAST protease DP1	66
Tabel IV.13	Hasil analisis BLAST protease DP2	69
Tabel IV.14	<i>Sequence alignment</i> asam amino antara protease strain K7 dan protease dari <i>Leuconostoc</i> yang ada di <i>Genebank</i>	78
Tabel IV.15	Identifikasi dan prediksi dari proses pensejajaran dari template-target	79

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Hasil sekuensing isolat K7	90
Lampiran 2	Hasil BLAST isolat K7	91
Lampiran 3	Hasil sekuensing isolat K8	92
Lampiran 4	Hasil BLAST isolat K8	93
Lampiran 5	Desain primer gen <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i>	94
Lampiran 6	Hasil sekuensing desain primer gen <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i>	95
Lampiran 7	Hasil BLAST gen <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i>	96
Lampiran 8	Uji aktivitas enzim protease isolat K7 dan K8	107
Lampiran 9	Penghitungan kemurnian DNA	100
Lampiran 10	Desain primer gen protease DP1	101
Lampiran 11	Hasil sekuensing gen protease DP1	102
Lampiran 12	Hasil BLAST gen protease DP1	103
Lampiran 13	Desain primer gen protease DP2	104
Lampiran 14	Hasil sekuensing gen protease DP2	108
Lampiran 15	Hasil BLAST gen protease DP2	109
Lampiran 16	Pensejajaran gen <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i>	110
Lampiran 17	Pensejajaran asam amino gen <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i>	114
Lampiran 18	Hasil pensejajaran asam amino <i>glukosa 6-fosfat dehidrogenase</i>	116
Lampiran 19	Pensejajaran gen protease	117
Lampiran 20	Pensejajaran asam amino gen protease	120
Lampiran 21	Perhitungan nilai Rf dan BM pada elektroforesis	121

DAFTAR SINGKATAN

BAL	: Bakteri Asam Laktat
BLAST	: <i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
dNTP	: <i>Deoxyribonucleic Triphosphate</i>
kDa	: kilo Dalton
NCBI	: <i>National Center for Biotechnology Information</i>
PH	: <i>Power of Hydrogen</i>
BPB	: Bromo Phenol Blue
16S rRNA	: <i>16 Svenberg Ribosome-Ribonucleic Acid</i>
GF/C	: <i>Glass Fiber/ Circle</i>
mRNA	: <i>messenger Ribonucleic Acid</i>
MUSCLE	: <i>Multi Sequence Alignmet</i>
OD	: <i>Optical Density</i>
ORF	: <i>Open Reading Frame</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
rRNA	: <i>ribosomal Ribonucleic Acid</i>
SDS	: <i>Sodium Dodecyl Sulphate</i>
UV	: Ultra Violet
TCA	: Tri Carboxylic Acid
3D	: 3-Dimensi
MEGA X	: <i>Molecular Evolutionary Genetics Analysis X</i>
MAA	: <i>Multiple Alignment Analysis</i>
BLASTp	: <i>Basic Local Alignment Search Tool Protein</i>
BLASTn	: <i>Basic Local Alignment Search Tool Nucleotide</i>
MSA	: <i>Multiple Sequence Alignment</i>
rpm	: <i>rotary per minute</i>